

⑫ 公表特許公報(A)

平3-501447

⑬ 公表 平成3年(1991)4月4日

⑭ Int. Cl.⁹

識別記号

庁内整理番号

審査請求有

予備審査請求 未請求

部門(区分) 1(1)

C 12 Q 1/48

Z

6807-4B

A 61 B 10/00

H

7831-4C

G 01 N 33/573

A

9015-2G

(全 6 頁)

⑯ 発明の名称 アラニン・アミノ基転移酵素の検出による歯周疾患の診断法

⑰ 特 願 平2-504314

⑱ 翻訳文提出日 平2(1990)10月13日

⑲ 出 願 平2(1990)1月17日

⑳ 国際出願 PCT/US90/00211

㉑ 国際公開番号 WO90/09589

㉒ 国際公開日 平2(1990)8月23日

優先権主張 ㉓ 1989年2月14日 ㉔ 米国(US) ㉕ 310,789

⑳ 発 明 者 バラム, ピーター

アメリカ合衆国 92037 カリフォルニア ラホイヤ ラホイヤシ
ーニツク ドライブ サウス 6835㉑ 出 願 人 ザイトロニクス, インコーポレ
イテッドアメリカ合衆国 92121 カリフォルニア サン ディエゴ ナン
シー リッジ ドライブ 6555

㉒ 代 理 人 弁理士 角田 嘉宏

㉓ 指 定 国 AT(広域特許), BE(広域特許), CH(広域特許), DE(広域特許), DK(広域特許), ES(広域特許), FR
(広域特許), GB(広域特許), IT(広域特許), JP, LU(広域特許), NL(広域特許), SE(広域特許)

請 求 の 範 囲

1. 歯肉溝液に存在するアラニン・アミノ基転移酵素の上昇した物質濃度を定量することを含む哺乳動物の活動性歯周疾患の存在を決定する方法。

2. 前記歯肉溝液に存在するアラニン・アミノ基転移酵素の上昇した液体濃度を定量することを含む請求項1に記載の方法。

3. 前記歯肉溝液が、1秒間から3秒間の間の選択された時間内で試料採取されたものであり、該液体中のアラニン・アミノ基転移酵素の総量を測定することを含む請求項1に記載の方法。

4. 前記歯肉溝液が、5秒間から30秒間の間の選択された時間内で試料採取されたものである請求項3に記載の方法。

5. 前記歯肉溝液が、毛細管で試料採取されたものである請求項1に記載の方法。

6. 前記歯肉溝液が、シリンジで試料採取されたものである請求項1に記載の方法。

7. 前記歯肉溝液が、吸収性細片で試料採取されたものである請求項1に記載の方法。

8. 前記定量法が、比色検定法である請求項1に記載の方法。

9. 前記定量法が、免疫学的検定法である請求項1に記載の方法。

10. 歯肉溝液に存在するアラニン・アミノ基転移酵素の上昇した濃度を定量することを含む歯周疾患の症状の治療効果を決定する方法。

11. 哺乳動物の活動性歯周疾患の存在を決定する診断用機器であって、下記のものを含むもの、すなわち、

歯肉溝液を採取する手段、

歯肉溝液のアラニン・アミノ基転移酵素の濃度を定量する手段、および

アラニン・アミノ基転移酵素の濃度を、活動性歯周疾患の存在を示す標準対照と相関させる手段。

12. 哺乳動物の活動性歯周疾患の存在を決定する診断用機器であって、下記のものを含むもの、すなわち、

歯肉溝液を採取する手段、

歯肉溝液をアラニン・アミノ基転移酵素の総量を定量する手段、および

アラニン・アミノ基転移酵素の総量を、活動性歯周疾患の存在を示す標準対照と相関させる手段。

明 細 書

「アラニン・アミノ基転移酵素の検出による歯周疾患の診断法」

発明の背景

本発明は一般に、歯肉溝液に存在する細胞内酵素を定量することによって、哺乳動物にみられる活動性歯周疾患の存在を決定する方法に関するものである。具体的には、本発明は、歯肉溝液に存在する酵素であるアラニン・アミノ基転移酵素(ALT)の濃度上昇を定量することによって、歯周疾患を決定する方法に関するものである。

ALTは、哺乳動物の組織に広く分布している細胞内酵素である。疾患、外傷あるいは毒性による急性の組織損傷によって、損傷を受けた細胞は、循環系、間質液、炎症性滲出液、その他の体液中にALTを放出する。ヒトにみられるALTの濃度上昇は、組織損傷を示すものであり、たいていの場合は、肝疾患に関連するものである。

歯周疾患は、微生物起源の炎症性疾患であり、歯の支持組織を冒すものである。「歯周疾患」という用語は、2つの主要な疾患で、別個のサブクラスに属する歯肉炎および歯周炎を包括している。歯肉炎は、骨の喪失や結合組織の結合喪失を伴わない、歯肉の炎症を特徴としている。歯肉炎は、絶対的な原因ではないが歯周炎の前駆症状であり、歯周炎は、歯肉組織と歯の間にある歯肉ポケットの進行性の形成を特徴としており、これが原因となって、結合組織の結合喪失および骨の喪失が生じ、最終的には、歯が抜けてしまうのである。現在利用できる歯周疾患の診断方法としては、主観的観察指標があり、歯肉炎につ

関させる方法を開示している。Periocheck (Advanced Clinical Technologies, Inc., Westwood, マサチューセッツ州) という器具が、中性プロテアーゼを検定して、歯周疾患の存在を決定するのに用いることができる。コラーゲナーゼと中性プロテアーゼ双方の発生源は、歯肉溝に移行した多形核白血球であるとされている。歯肉溝液のその他の成分、例えば、その存在が骨の破壊を示すと考えられる、コンドロイチン-4-硫酸は、歯肉炎に関連する歯肉溝液中と、歯周炎に伴う歯肉溝液中とは異なることが明らかにされている。炎症の媒介物質であるプロスタグランジンE₂は、歯肉炎よりも歯周炎とより密接な関連があることも示唆されている。

アスパラギン酸アミノ基転移酵素(AST)は、身体の組織や器官に広く分布している細胞内酵素である。血液やその他の体液中のASTの濃度が上昇することは、組織の炎症ならびに細胞の損傷を示している。特に、ASTは、肝臓や心臓、骨格筋の疾患の診断に利用されている。ASTとALTとの比率(かつてのSGOT/SGPTの比率)は、この比率が高ければ、高いほど、損傷の程度が重大であるという具合に、肝臓の損傷の程度を評価する上で有益であった。

歯肉溝液中のASTの濃度の上昇は、活動性歯周疾患の存在と非常に高い相関があることが認められている。(米国オハイオ州シンシナティで1983年3月17-20日に開催された米国歯学研究学会に提出された Crawford, J.H., S. Mukherjee, D.A. Chambers and R. Cohen, Abstract No. 241; および Mukherjee, S., J. Crawford, D.A. Chambers, and R. Cohen, Abstract No. 242; ならびに Chambers, D.A., J.H. Crawford, S. Mukherjee and R. Cohen, *J. Periodontol.*, 55, No. 9, 526-530, Sept. 1984)の要約を参照されたい。Crawfordらの要約は、

いては、Lee, H. and P. Silness, *Acta Odont. Scand.*, 21: 533 (1963)が、また、歯周炎については、Raefford, S., *J. Periodontol.*, 38:602 (1967)がある。歯周炎に関するこれらの指標は、軽く探針透過した際の出血、ポケットの深さ、結合の喪失、あるいは、骨喪失のレントゲン所見等の判定基準に基づいたものである。不幸にして、これらの臨床的指標は、探針透過による出血を除いて、一般には、過去の疾患と以前の損傷を反映するものとして認識されている。このような指標のうち、探針透過による出血(探針や探針器のような硬い器具を用いて歯肉溝またはポケットを透過することによる歯肉組織からの出血)のみが、活動性歯周疾患と相関があるとされている。にもかかわらず、出血そのものは疾患の主観的な指標であり、探針透過による出血の診断的価値は、このような出血が歯周疾患の疑似陽性の徴候と高い割合で関連するとして疑問視されている。Baffajee, A.D., S.S. Socarrsky and J.M. Goodson, *J. Clin. Perio.*, 10:257-265 (1983)参照。

歯周疾患の診断のための他の方法が、提唱されている。歯肉炎および歯周炎はいずれも、歯肉溝やポケットに歯肉溝液(血清の滲出液)の蓄積ならびに流出を特徴とするため、ある部位における歯肉溝液の容量の測定が、歯周疾患の検出のための診断方法として提案されている。Periotron (Harco Electronics Ltd.; Winnipeg, カナダ)として知られている器具は、この原理を利用し、歯と歯肉の隙間に挿入したPeriopaper (Harco; Testin, カリフォルニア州)として知られる多孔質材料の小細片に吸収された歯肉溝液の容量を電気測定法によって測定する。

さらに別の方法は、歯周疾患を診断するための歯肉溝液成分の分析に関する。Kornman, *J. Period. Res.*, 22, (1987)は、歯肉溝液中に存在するコラーゲナーゼと歯周疾患の程度とを相

歯肉炎と歯周炎を実験的に誘発させた犬を用いた研究を開示している。具体的には、まず、5頭のビーグル犬の歯肉が健康であることを確認し、次に軟らかい食餌を導入し、また、歯磨きを止めることによって、4週間にわたって、歯肉炎が進行するようにした。次に、犬の歯を結紮することによって、歯周炎を誘発させた。歯肉溝液の標本を、一週間毎に歯の分離と乾燥をした後に、容量測定用付毛細管に採取した。この要約は、実験的歯周炎の発生時に得られた歯肉溝液には、(歯の)結紮前(468 ± 164 SFU/ml)と比べて、そのピーク時において約10倍の濃度のAST(3209 ± 1435 SFU/ml)が含まれており、さらに、実験的歯肉炎の発生時に得られた歯肉溝液には、血清中の濃度(41 ± 4 SFU/ml)と比べて、約10倍の濃度のASTが含まれていたことを示した。

Chambersら、*J. Periodontol.*の論文は、犬を用いたさらに詳細な研究について記述しており、歯肉溝液中の平均AST濃度は、結合程度の臨床的評価や、歯肉の炎症とは相関しないことを述べている。しかし、この論文は歯の結紮から2週間後にみられたAST活性のピークはビーグル犬について報告された高レベルの柔組織破壊と破骨細胞活性時期、ならびに、サルに見られた結紮誘発歯周炎の活動性骨吸収の時期と同時期であったとしている。この論文はさらに、歯肉溝液のAST濃度は、歯垢中の酵素濃度とは相関しておらず、酵素が細菌起源でないことを開示している。

Mukherjeeの要約は、Raeffordの歯周疾患指数(PDI)に従って、歯肉炎または歯周炎と診断された部位から容量測定用毛細管に採取されたヒトの歯肉溝液中のAST濃度の測定に関して述べている。探針で透過した際の出血の有無によって示された疾患の活動性についても記述されていた。探針による透過で出血

を見なかった部位から採取された歯肉溝液のAST 濃度は、 0 SFU/ml ($N=4$)、さらに最小限出血の場合は、 $464 \pm 113 \text{ SFU/ml}$ ($N=4$)、さらに一定の出血の場合は、 $595 \pm 192 \text{ SFU/ml}$ ($N=6$)であった。歯肉炎および歯周炎について分類したデータを解析すると、それぞれ、 $363 \pm 182 \text{ SFU/ml}$ ($N=4$)と $424 \pm 119 \text{ SFU/ml}$ ($N=3$)であった。この要約は、歯肉溝液中のAST 濃度は、探針で検出された時の出血によって決定される疾患の活動性と相関する可能性を記している。

該文献では、歯肉溝液中の高いAST と、結合の喪失あるいは歯肉炎症のいずれかとの間の特異的な正の関連を裏証していないが、該文献には、歯肉溝液中のAST 濃度と、探針による検出の出血で決定された歯周疾患の活動性との間には、一般的な関連性が存在することが示されている。その内容を参照することによって本願出願に組み込んだ1984年1月31日に出版された米国特許出願第575,552号に基づき、1985年8月14日に公開されたChamberの欧州特許出願第151,536号は、前述の論文および要約において具体化された研究および前述の高いAST 濃度と歯周疾患の活動性との間の一般的な関係の認識に関するものである。当該出願は、歯肉溝液に存在するAST 濃度が高いことは、高い確率で非進行性ではない進行性の歯周疾患や、それに対応する組織損傷の兆しであるという認識に基づいた診断方法を述べたものである。

Chambersの特許出願の方法によれば、歯肉溝液は、マイクロシリンジ、毛細管あるいは吸収性細片等の手段を用いて歯肉溝から採取される。試料の容量を測定し、さらに採取した歯肉溝液の試料中のAST 濃度を、比色検定法または免疫検定法のいずれかによって定量する。この特許出願では、歯肉溝液を検定して高レベルのアスパラギン酸アミノ基転移酵素の存在を調べる

ことを含む、哺乳動物の活動性歯周疾患を決定する方法が記されている。当該出願では、高レベルのAST 量を、試験した動物種の健康な成体の血漿中に通常見られるAST 濃度、すなわち、用いる正確な試験計画によって異なるが、約4〜約32ミリ国際単位/mI(mIU/ml)の範囲を大幅に上回るものとして定義している。

Chambersらのグループが行ったAST に関する研究に加えて、他の組織、細菌由来酵素と歯周疾患との関係が検討されている。Lawsterら、*J. Periodontol.*, 56, 139-147 (1985)は、歯肉溝液の分量と実験的歯肉炎の進行過程における歯肉溝液中の酵素、乳酸脱水素酵素(LDH)、 β -グルクロニダーゼ(BG)、およびアリールスルファターゼ(AS)の酵素活性を評定する研究を開示している。Bangら、*Helv. Odont. Acta.*, 16:89 (1972)、Weinsteinら、*Archs. Oral Biol.*, 17:375 (1972)、及びSnyderら、*J. Dent. Res.*, 62:196 (1983)は、歯肉溝液に存在するLDH、およびLDH と歯周疾患のパラメーターとの相関に関するものである。Bangら、*Archs. Oral Biol.*, 15:445-441 (1970)は、BGと歯肉の炎症との相関に関するものである。

LDH は主に、歯肉溝の上皮細胞から誘導されると言われているが、歯肉溝に溶解している繊維芽細胞や多形核白血球も、LDH プールの一因である。BGは主として、浸潤性多形核白血球ならびにマクロファージのリソソーム顆粒の分解によって誘導されると言われている。AS活性のパターンは、LDH とBGの活性パターンの中間に位置すること特徴としており、この酵素の起源としては、多形核白血球、肥満細胞および繊維芽細胞がある。

歯肉溝液の「静止」容量は、濾紙細片を弱い抵抗を感じられるまで歯肉溝に挿入し、さらに細片をその場に30秒間放置し、吸収された液量を定量して決定した。細片を取り出した後に、

30秒間待ち、さらに、第二の濾紙細片を同部位に3秒間挿入して「流動」容量を決定した。実験的歯肉炎を誘発した実験動物から得られたデータを解析したところ、4週間の研究期間中に臨床的炎症は進行したが、BGとASの濃度および全活性(濃度×標準容量)は、歯肉炎の発症過程では上昇したが、研究を開始してから最長2週間または3週間経過後に、ピークに達するか、横ばい状態になることが判明した。このデータは、対応するBGまたはASの活性の増加を伴わずに、液量の増加が、試験の後半に起きたことを示した。実験中のLDH 濃度と全活性の増加は、劇的なものではなく、歯肉溝液中のLDH 濃度は、軽度炎症を起こした歯肉を持った実験動物よりも、健全な歯肉を持った実験動物のほうが高いとした初期の実験結果と一致するものであった。Lawster らはまた、濃度だけに関する歯肉溝液成分データの報告は不十分であり、標準中の濃度と全活性の双方に関する酵素データの報告が望ましいことも示唆した。

Lawster ら、*J. Clin. Periodontol.*, 13, 799-804 (1986)は、歯周炎患者グループと対照グループの30秒間標準のLDH、BGおよびASの濃度および全活性を、検定したデータを提示している。酵素濃度と歯肉指数(GI)および探針検出の深さについて、負または低い正の相関係数が得られた。一方、30秒間標準の病状の程度の増大と全酵素活性との間の「中度の、しかし絶対的ではない」相関が、このデータによって示唆された。したがって、Lawster らは、標準化した標準の全活性が、歯肉溝液成分データを報告するためのより適切な手段となりことを示唆した。

その開示内容を参照することにより、本願に組み込んだ最近の共同出願、Chambers らの1988年10月26日に出版の米国特許出願第262,995号では、結論により実験的に誘発した犬の歯周炎の研究、ならびに歯肉溝液(GCF)中のAST 活性測定に関する、

歯周炎患者の経時的研究の結果が示された。この特許出願では、選択された短期間の間に採取されたGCF 試料中のAST の全活性が、GCF のAST 濃度を検定した場合よりも、歯周疾患の活動性と良く相関していたことがわかった。さらに、GCF 試料中のAST の全活性は、歯肉炎、歯周炎のいずれでも歯周疾患の程度と疾患の型の両方を示すことが見出された。

当該技術において様々な進歩があったにもかかわらず、歯周疾患の存在を酵素で決定する単純かつ信頼性の高い手段が望まれている。このような方法は、かような疾患の診断、あるいは、歯周疾患症状の治療効果の決定に用いることができるであろう。薬剤投与、歯根移植、もしくは外科的処置を伴う歯周炎の連続的または反復的な処置が容易でないため、歯周疾患の観察は重要事項である。探針検出の深さや骨のレントゲン所見等の臨床的パラメーターの観察を含む現行の方法では、治療効果の評価の遅延をもたらすだけである。したがって、改善された方法が、望まれていることは明らかである。

発明の要約

本発明は、哺乳動物の活動性歯周疾患の存在を決定する方法に関する。本発明は、歯周疾患の症状の治療効果を決定する方法も提供する。具体的には、該方法は、歯肉溝液に存在する酵素ALT の濃度上昇を測定することを含む。歯肉溝液に存在するALT 濃度は、歯周疾患の程度ならびに病歴の指標と相関していることが判明し、また歯周疾患の病歴の無い者に通常見られる歯肉溝液の濃度よりも高い濃度、あるいは歯周疾患の現在の徴候は、活動性歯周疾患の存在、程度および型を示すものである。

本発明の方法では、歯肉および歯の境界部から歯肉溝液(GCF)

特表平3-501447(4)

を採取し、ALT の存在を検定するのである。一つの方法では、GCF 試料中のALT 濃度を測定し、歯周疾患の存在を示す標準対照と比較される。本発明の好ましい実施態様では、GCF を選択された短時間、好ましくは、約1秒間から約3分間、最も好ましくは約5秒間から30秒間、の間に歯肉溝の一定の部位から採取する。このようにして得られたGCF 試料は、試料採取部位によって、採取量が異なる。このようにして試料採取されたGCF は、その採取量にかかわらず、次に、存在するALT の濃度ではなく、ALT の全活性を定量するために検定する。このように検定された試料中のALT の全活性は、上記の選択された試料採取時間で採取された、歯周疾患の存在、型および程度を示す標準対照と相関させるのである。本発明の改良された方法は、歯周疾患の診断に有益であるだけでなく治療した歯肉部位の歯周疾患の活動性を決定することによって歯周疾患症状の治療効果を測定する上でも有用である。

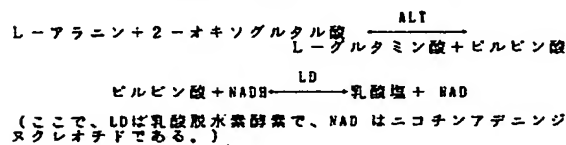
詳細な説明

本発明の実施においては、歯肉溝液を歯と歯肉組織の間の歯肉溝間隙から試料採取する。試料採取した液体は、周知の化学的または免疫学的方法によってALT 濃度を定量分析する。定量されたALT 濃度は、活動性歯周疾患の存在を示す標準対照と相関させる。このALT 濃度が標準対照よりも大きければ、活動性歯周疾患の存在は明らかである。

本発明の好ましい実施態様では、歯肉溝液を選択された短時間の間に、歯肉溝の特定部位から採取する。この時間内で得られた液体の全量を周知の方法を再度用いて、ALT の全活性を検定する。このように定量した試料のALT の総量は、前記の選択

るために検定する。周知の化学的または（ALT に特異的なモノクローナル抗体の使用を含む）免疫学的方法を用いて、かような検定を行ってもよい。

例えば、Lottら "Clinical Enzymology: A Case-Oriented Approach," Chapter 6, p.132, 1986 において示された、ALT の定量のための既知の反応工程は、次の通りである。



NADHの量が第二反応によって減少するに従い、吸光度の減少が、340 nmで始まる。ALT 活性の定量のための他の反応工程は、当業者にとって、容易に想到できるものである。このような反応工程は、ALT 活性の定量のために、ジアゾ染料を含む様々な種類の物質を利用できる。ALT は、非常に安定した酵素であり、その活性は24時間後でも変化せず、4℃で少なくとも1週間は安定している。

実施例1

現行の歯周炎の経時的研究の一環として、患者は2年以上にわたって、年四回の継続治療計画に参加し、ALT 活性はこれらの患者の内の19名から採取された歯肉溝液(GCF) 試料について測定された。このGCF 試料は、1対象患者につき、8個の歯周部位、合計152箇所の各箇所から30秒間にわたって採取された。各GCF 試料のALT の全活性を測定した。これら部位は炎症もし

された採取時間において採取された、活動性歯周疾患の存在、型あるいは程度を示す標準対照と比較する。

本発明において、歯肉溝液は、歯肉溝から、微細な注射針（好ましくは先端が鋭いもの）を装着したマイクロシリンジ、または較正する必要のない毛細管を含む様々な手段によって採取してもよい。試料は同様に、ガーゼ、綿棒あるいはデンタル・フロスのような糸状材料でも採取できる。好ましくは、該液体は、Periopaper (Harco, Tuslin, カリフォルニア州) として知られている吸収性紙片でもって試料採取してもよい。この試料は、試料採取手段を歯肉溝の歯肉溝液に直接接触させて採取される。これら採取手段は、選択された試料採取時間の内に、採取される歯肉溝液を十分に収容できる容量を有するものとする。この容量は、約1μlもしくはそれ以下とすべきであるが、この試料分量は、歯肉溝液流動量が非常に大きい時は、かなり多くてもよい（すなわち、1-10μl）。採取された液体は、試料採取手段の全採取容量以下でもよい。歯肉溝のある部位から液体またはALT 酵素が採れないときは、該部位が一般に健康であることを示しており、またそのように判定できる。前記吸収性手段が吸収した液体の容量を計量する必要はないが、一般に該手段が、歯肉溝にある液体のすべてを吸収することが望ましい。

本発明の好ましい方法は、特定の方法論に従った歯肉溝液の試料採取を含み、それに従い、特定部位の歯肉溝液を選択され、標準化した時間、好ましくは約5秒間から約3分間、最も好ましくは約5から30秒間、において試料採取する。試料採取時間は、歯周疾患の存在、型または程度を決定するために選択された標準対照に関して均一でなければならない。何らかの手段によって採取された口腔液試料は、存在するALT の総量を定量す

くは過去の歯周炎の程度に関する所見を臨床的に評価した。

結果を第1表と第2表に示した。第1表では最も重度の炎症を起こしていた部位（歯肉指数が2で、GCF量は0.4μl以上）では、ALT 活性が増加傾向であることが示されている。第2表においては、過去に最も重度の疾患を罹患した所見のある部位（ポケットの深さが4mm以上で、探針通過での接触レベルが7mm以上）でもALTが増加傾向にあった。これら結果は、ALT 活性と歯周疾患の程度または過去の疾患の指標との間に正の相関があることを実証するものである。

第1表

GCF中のALTと歯周炎の臨床的所見との関連

	歯肉指数			歯肉溝液量(μl)		
	0	1	2	0-0.2	0.21-0.4	>0.4
30秒間試料のALT平均活性(μIU)	307	409	1141	356	414	1111

第2表

GCF中のALTと過去の歯周疾患の臨床所見との関連

	探針通過によるポケットの深さ			探針通過による接触レベル(mm)		
	1-3	4	>4	2-5	5-7	>7
30秒間試料のALT平均活性(μIU)	335	619	1789	341	330	1196

上記発明の多数の修正と変更を当業者が思いつくことが予想される。とりわけ、歯周疾患の潜在的存在の可能性を示す比色定量機器に改良を加えた検定方法の修正が予想される。したがって、請求の範囲に示された限定のみが、本願発明に課されるべきである。

補正書の写し(翻訳文)提出書 (特許法第184条の7第1項)

補正された請求の範囲

平成 2 月 10 月 13 日

特許庁長官 植 松 敏 殿

1. 特許出願の表示 PCT/US90/00211

2. 発明の名称 α -アミノ基転移酵素の検出による歯周疾患の診断法
アラニン・アミノ基転移酵素の検出による歯周疾患の診断法

3. 特許出願人

居 所 アメリカ合衆国 92121 カリフォルニア サン ディエゴ
ナンシー リッジ ドライブ 6555
名 称 ゼイトロニクス、 インコーポレイテッド
代表者 (国籍: アメリカ合衆国)

4. 代 理 人

住 所 神戸市中央区東町123番地の1 貿易ビル3階
電話 神戸 (078) 321-8822

氏 名 弁理士 (6586) 角 田 嘉 夫

5. 補正書の提出年月日 1990年7月31日

6. 添付書類の目録

補正書の写し(翻訳文)

1 通



7. 前記歯肉溝液が、吸収性綿片で試料採取されたものである請求項1に記載の方法。

8. 前記定量法が、比色検定法である請求項1に記載の方法。

9. 前記定量法が、免疫学的検定法である請求項1に記載の方法。

10. 歯肉溝液に存在する α -アラニン・アミノ基転移酵素の上昇した濃度を定量することを含む歯周疾患の症状の治療効果を決定する方法。11. 哺乳動物の活動性歯周疾患の存在を決定する診断用機器であって、下記のものを含むもの、すなわち、
歯肉溝液を採取する手段、
歯肉溝液の α -アラニン・アミノ基転移酵素の濃度を定量する手段、および
 α -アラニン・アミノ基転移酵素の濃度を、活動性歯周疾患の存在を示す標準対照と相関させる手段。12. 哺乳動物の活動性歯周疾患の存在を決定する診断用機器であって、下記のものを含むもの、すなわち、
歯肉溝液を採取する手段、
歯肉溝液を α -アラニン・アミノ基転移酵素の総量を定量する手段、および
 α -アラニン・アミノ基転移酵素の総量を、活動性歯周疾患の存在を示す標準対照と相関させる手段。

(1990年7月31日に国際事務局に受領された。

当初の請求の範囲第1-3項ならびに第10-12項を補正した。その他の請求の範囲は、従前のままである(2頁)。)

1. 歯肉溝液に存在する α -アラニン・アミノ基転移酵素の上昇した物質濃度を定量することを含む哺乳動物の活動性歯周疾患の存在を決定する方法。2. 前記歯肉溝液に存在する α -アラニン・アミノ基転移酵素の上昇した液体濃度を定量することを含む請求項1に記載の方法。3. 前記歯肉溝液が、1秒間から3秒間の間の選択された時間内で試料採取されたものであり、該液体中の α -アラニン・アミノ基転移酵素の総量を測定することを含む請求項1に記載の方法。

4. 前記歯肉溝液が、5秒間から30秒間の間の選択された時間内で試料採取されたものである請求項3に記載の方法。

5. 前記歯肉溝液が、毛細管で試料採取されたものである請求項1に記載の方法。

6. 前記歯肉溝液が、シリンジで試料採取されたものである請求項1に記載の方法。

国際調査報告

1. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		PCT/US90/00211	
IPC (8): 601N 33/535		U.S. CL.: 435/7	
2. FIELD SEARCHED			
3. DOCUMENTS RELEVANT TO THE INVENTION			
U.S. 435/7, 15, 16, 810			
4. SUMMARY OF THE INVENTION			
5. REFERENCE TO THE INVENTION			
6. SUMMARY OF THE INVENTION			
7. SUMMARY OF THE INVENTION			
8. SUMMARY OF THE INVENTION			
9. SUMMARY OF THE INVENTION			
10. SUMMARY OF THE INVENTION			
11. SUMMARY OF THE INVENTION			
12. SUMMARY OF THE INVENTION			
13. SUMMARY OF THE INVENTION			
14. SUMMARY OF THE INVENTION			
15. SUMMARY OF THE INVENTION			
16. SUMMARY OF THE INVENTION			
17. SUMMARY OF THE INVENTION			
18. SUMMARY OF THE INVENTION			
19. SUMMARY OF THE INVENTION			
20. SUMMARY OF THE INVENTION			
21. SUMMARY OF THE INVENTION			
22. SUMMARY OF THE INVENTION			
23. SUMMARY OF THE INVENTION			
24. SUMMARY OF THE INVENTION			
25. SUMMARY OF THE INVENTION			
26. SUMMARY OF THE INVENTION			
27. SUMMARY OF THE INVENTION			
28. SUMMARY OF THE INVENTION			
29. SUMMARY OF THE INVENTION			
30. SUMMARY OF THE INVENTION			
31. SUMMARY OF THE INVENTION			
32. SUMMARY OF THE INVENTION			
33. SUMMARY OF THE INVENTION			
34. SUMMARY OF THE INVENTION			
35. SUMMARY OF THE INVENTION			
36. SUMMARY OF THE INVENTION			
37. SUMMARY OF THE INVENTION			
38. SUMMARY OF THE INVENTION			
39. SUMMARY OF THE INVENTION			
40. SUMMARY OF THE INVENTION			
41. SUMMARY OF THE INVENTION			
42. SUMMARY OF THE INVENTION			
43. SUMMARY OF THE INVENTION			
44. SUMMARY OF THE INVENTION			
45. SUMMARY OF THE INVENTION			
46. SUMMARY OF THE INVENTION			
47. SUMMARY OF THE INVENTION			
48. SUMMARY OF THE INVENTION			
49. SUMMARY OF THE INVENTION			
50. SUMMARY OF THE INVENTION			
51. SUMMARY OF THE INVENTION			
52. SUMMARY OF THE INVENTION			
53. SUMMARY OF THE INVENTION			
54. SUMMARY OF THE INVENTION			
55. SUMMARY OF THE INVENTION			
56. SUMMARY OF THE INVENTION			
57. SUMMARY OF THE INVENTION			
58. SUMMARY OF THE INVENTION			
59. SUMMARY OF THE INVENTION			
60. SUMMARY OF THE INVENTION			
61. SUMMARY OF THE INVENTION			
62. SUMMARY OF THE INVENTION			
63. SUMMARY OF THE INVENTION			
64. SUMMARY OF THE INVENTION			
65. SUMMARY OF THE INVENTION			
66. SUMMARY OF THE INVENTION			
67. SUMMARY OF THE INVENTION			
68. SUMMARY OF THE INVENTION			
69. SUMMARY OF THE INVENTION			
70. SUMMARY OF THE INVENTION			
71. SUMMARY OF THE INVENTION			
72. SUMMARY OF THE INVENTION			
73. SUMMARY OF THE INVENTION			
74. SUMMARY OF THE INVENTION			
75. SUMMARY OF THE INVENTION			
76. SUMMARY OF THE INVENTION			
77. SUMMARY OF THE INVENTION			
78. SUMMARY OF THE INVENTION			
79. SUMMARY OF THE INVENTION			
80. SUMMARY OF THE INVENTION			
81. SUMMARY OF THE INVENTION			
82. SUMMARY OF THE INVENTION			
83. SUMMARY OF THE INVENTION			
84. SUMMARY OF THE INVENTION			
85. SUMMARY OF THE INVENTION			
86. SUMMARY OF THE INVENTION			
87. SUMMARY OF THE INVENTION			
88. SUMMARY OF THE INVENTION			
89. SUMMARY OF THE INVENTION			
90. SUMMARY OF THE INVENTION			
91. SUMMARY OF THE INVENTION			
92. SUMMARY OF THE INVENTION			
93. SUMMARY OF THE INVENTION			
94. SUMMARY OF THE INVENTION			
95. SUMMARY OF THE INVENTION			
96. SUMMARY OF THE INVENTION			
97. SUMMARY OF THE INVENTION			
98. SUMMARY OF THE INVENTION			
99. SUMMARY OF THE INVENTION			
100. SUMMARY OF THE INVENTION			

ATTACHMENT TO FORM PCT/ISA/210, PART II.

II. FIELDS SEARCHED/SEARCH TERMS:

L- alanine aminotransferase
D- alanine aminotransferase periodont?
gingiv ?
glutamic - pyruvic transaminase
alanine transaminase
glutamic - alanine transaminase
D- aspartic aminotransferase

This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record.

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.